

PCT

世界知的所有権機関  
国際事務局

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

5



<b>(51) 国際特許分類6</b> C12M 1/00, C12Q 1/68, C12N 15/00	<b>A1</b>	<b>(11) 国際公開番号</b> WO99/40173  <b>(43) 国際公開日</b> 1999年8月12日(12.08.99)
<b>(21) 国際出願番号</b> PCT/JP99/00524  <b>(22) 国際出願日</b> 1999年2月8日(08.02.99)  <b>(30) 優先権データ</b> 特願平10/41035 1998年2月9日(09.02.98) JP  <b>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について)</b> 東洋鋼板株式会社(TOYO KOHAN CO., LTD.)(JP/JP) 〒100-8911 東京都千代田区霞が関一丁目4番3号 Tokyo, (JP)  <b>(72) 発明者 ; および</b>  <b>(75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ)</b> 丹花通文(TANGA, Michifumi)(JP/JP) 〒744-8611 山口県下松市東豊井1296番地の1 東洋鋼板株式会社 技術研究所内 Yamaguchi, (JP) 高橋浩二郎(TAKAHASHI, Kojiro)(JP/JP) 〒734-0015 広島県広島市南区宇品御幸一丁目9番26号 Hiroshima, (JP)  <b>(74) 代理人</b> 弁理士 太田明男(OHTA, Akio) 〒100-8911 東京都千代田区霞が関一丁目4番3号 東洋鋼板株式会社内 Tokyo, (JP)		<b>(81) 指定国</b> AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)  <b>添付公開書類</b> 国際調査報告書
<b>(54) Title:</b> <u>SUBSTRATES FOR IMMOBILIZING AND AMPLIFYING DNA, DNA-IMMOBILIZED CHIPS HAVING DNA IMMOBILIZED ON THE SUBSTRATES, AND METHOD FOR AMPLIFYING DNA</u>  <b>(54) 発明の名称</b> DNAを固定化して増幅するための基体、その基体にDNAを固定化したDNA固定化チップ及びDNAを増幅する方法  <b>(57) Abstract</b> Substrates for immobilizing DNA, etc. to give DNA libraries, etc.; and chips appropriately usable in amplifying DNA, etc. by PCR amplification. The PCR amplification is effected by using highly conductive solid substrates for immobilizing DNA. These substrates are surface-modified with chemicals having polar groups at the terminals. Use of the DNA-immobilized chips having DNA immobilized on these substrates makes it possible to amplify DNA within a short time in the PCR method.		

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

TECHNICAL CENTER 100/2900

Applicant's or agent's file reference 1502PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP99/00524	International filing date (day/month/year) 08 February 1999 (08.02.99)	Priority date (day/month/year) 09 February 1998 (09.02.98)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12M 1/00, C12Q 1/68, C12N 15/00		
Applicant TOYO KOHAN CO., LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of \_\_\_\_\_ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 07 July 1999 (07.07.99)	Date of completion of this report 13 March 2000 (13.03.2000)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/00524

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the elements of the international application:\*

☒ the international application as originally filed

☐ the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

☐ the claims:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

☐ the drawings:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

☐ the sequence listing part of the description:

pages \_\_\_\_\_, as originally filed

pages \_\_\_\_\_, filed with the demand

pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).

☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).

☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages \_\_\_\_\_

☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_

☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP99/00524

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-12	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-12	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

Concerning claims 1-12

Document 1: JP, 9-99932, A (Dainippon Printing Co., Ltd.), 15 April, 1997 (15.04.97)

Paragraphs [0009]-[0010]

(Family: none)

Document 2: Direct detection of nucleic acid hybridization on the surface of a charge coupled device, (Jagannath B. Lamture et al.), Nucleic Acids Research, 1994, Vol. 22, No. 11, pages 2121-2125

Document 3: A Microchip for Quantitative Detection of Molecules Utilizing Luminescent and Radioisotope Reporter Groups, (M. Eggers et al.), BioTechniques, 1994, Vol. 17, No. 3, pages 516-525

Cited document 1 discloses the fact that in a PCR reactor it is desirable to use a substrate that conducts heat rapidly and has low permeability to water vapor so that heat conduction will be rapid and uniform.

Cited documents 2 and 3 contains disclosures concerning DNA chips in which oligonucleotides are covalently bonded to SiO<sub>2</sub> via epoxy groups.

It is thus considered that, since cited document 1 discloses the use of a highly thermally conductive material in the PCR reaction, it would be easy for a person skilled in the art to conceive of also using a highly thermally conductive material as the substrate of a DNA chip.

Moreover, it is considered that it was well known at the time of filing of the present application that diamond is such a highly thermally conductive material and that it has been used in the past as a type of thermally conductive substrate.

It is thus considered that it would not be especially difficult to select diamond as a highly thermally conductive substrate.

Furthermore, it is considered that it would be easy for a person skilled in the art to conceive of producing a DNA chip on such a substrate using chemical modification methods such as those disclosed in documents 2 and 3.



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 C12M 1/00, C12Q 1/68, C12N 15/00</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO99/40173</p> <p>(43) 国際公開日 1999年8月12日(12.08.99)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/00524</p> <p>(22) 国際出願日 1999年2月8日(08.02.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平10/41035 1998年2月9日(09.02.98) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 東洋鋼板株式会社(TOYO KOHAN CO., LTD.)(JP/JP) 〒100-8911 東京都千代田区霞が関一丁目4番3号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 丹花通文(TANGA, Michifumi)(JP/JP) 〒744-8611 山口県下松市東豊井1296番地の1 東洋鋼板株式会社 技術研究所内 Yamaguchi, (JP) 高橋浩二郎(TAKAHASHI, Kojiro)(JP/JP) 〒734-0015 広島県広島市南区宇品御幸一丁目9番26号 Hiroshima, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 太田明男(OHTA, Akio) 〒100-8911 東京都千代田区霞が関一丁目4番3号 東洋鋼板株式会社内 Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
<p>(54)Title: SUBSTRATES FOR IMMOBILIZING AND AMPLIFYING DNA, DNA-IMMOBILIZED CHIPS HAVING DNA IMMOBILIZED ON THE SUBSTRATES, AND METHOD FOR AMPLIFYING DNA</p> <p>(54)発明の名称 DNAを固定化して増幅するための基体、その基体にDNAを固定化したDNA固定化チップ及びDNAを増幅する方法</p> <p>(57) Abstract Substrates for immobilizing DNA, etc. to give DNA libraries, etc.; and chips appropriately usable in amplifying DNA, etc. by PCR amplification. The PCR amplification is effected by using highly conductive solid substrates for immobilizing DNA. These substrates are surface-modified with chemicals having polar groups at the terminals. Use of the DNA-immobilized chips having DNA immobilized on these substrates makes it possible to amplify DNA within a short time in the PCR method.</p>		

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/00524

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>6</sup> C12M1/00, C12Q1/68, C12N15/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>6</sup> C12M1/00, C12Q1/68, C12N15/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

BIOSIS (DIALOG), WPI (DIALOG)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y A	JP, 9-99932, A (Dainippon Printing Co., Ltd.), 15 April, 1997 (15. 04. 97), Par. Nos. [0009], [0010] Par. Nos. [0009], [0010] (Family: none)	1, 3-12 2
Y A	Jagannath B. Lamture, et al., "Direct detection of nucleic acid hybridization on the surface of a charge coupled device" Nucleic Acids Research (1994), Vol. 22, No. 11, p.2121-2125	1, 3-12 2
Y A	M. Eggers, et al., "A Microchip for Quantitative Detection of Molecules Utilizing Luminescent and Radioisotope Reporter Groups" BioTechniques (1994), Vol. 17, No. 3, p.516-525	1, 3-12 2

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
26 April, 1999 (26. 04. 99)Date of mailing of the international search report  
11 May, 1999 (11. 05. 99)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平 9 - 9 9 9 3 2

(43) 公開日 平成 9 年 (1997) 4 月 15 日

(51) Int. Cl. °	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
B65D 1/09			B65D 1/00	A
B01J 14/00			B01J 14/00	Z
// B01L 3/00			B01L 3/00	
C12M 1/00			C12M 1/00	A
C12Q 1/68		9453-4B	C12Q 1/68	A
審査請求 未請求 請求項の数 13 O L (全 7 頁)				

(21) 出願番号 特願平 8 - 2 0 2 4 2

(22) 出願日 平成 8 年 (1996) 2 月 6 日

(31) 優先権主張番号 特願平 7 - 1 9 8 8 7 3

(32) 優先日 平 7 (1995) 8 月 3 日

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 0 0 0 0 0 2 8 9 7

大日本印刷株式会社

東京都新宿区市谷加賀町一丁目 1 番 1 号

(72) 発明者 中川 美和

東京都新宿区市谷加賀町一丁目 1 番 1 号

大日本印刷株式会社内

(72) 発明者 岡 素裕

東京都新宿区市谷加賀町一丁目 1 番 1 号

大日本印刷株式会社内

(74) 代理人 弁理士 平木 祐輔 (外 1 名)

(54) 【発明の名称】 反応器

(57) 【要約】

【解決手段】 少なくとも 1 個の凹部が設けられた基材と、フィルムとからなり、前記フィルムが前記基材に熱溶着又は圧着されることにより前記凹部を密閉することが可能である反応器。開口部が設けられた空隙を少なくとも 1 個有する容体からなり、前記開口部が熱溶着、圧着又は凹凸嵌合により閉塞可能である反応器。

【効果】 多数のサンプルを同時に反応させることができ、しかも、熱溶着、圧着又は凹凸嵌合により簡単に密閉することができる。更に、反応液供給部分の容積をサンプル量とほぼ同等に設定することができるので、サンプルが微量であってもサンプルが加熱により蒸発することがなく、また、反応液の回収も容易に行うことができる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 少なくとも 1 個の凹部が設けられた基材と、フィルムとからなり、前記フィルムが前記基材に熱溶着又は圧着されることにより前記凹部を密閉することが可能である反応器。

【請求項 2】 凹部の容積が、 $10\mu\text{l}$  ～  $2\text{ml}$  である、請求項 1 に記載の反応器。

【請求項 3】 開口部を有する空隙を少なくとも 1 個有する容体からなり、前記開口部が熱溶着、圧着又は凹凸嵌合により閉塞されて前記空隙を密閉することが可能である反応器。

【請求項 4】 空隙の容積が、 $10\mu\text{l}$  ～  $2\text{ml}$  である、請求項 3 に記載の反応器。

【請求項 5】 前記容体が切り込み部分又はくびれ部分を有しており、前記切り込み部分又はくびれ部分に力を加えて前記容体を破損することにより前記空隙が外気と連通する請求項 3 又は 4 に記載の反応器。

【請求項 6】 前記容体が、フィルムを開口部を有する袋状の空隙が少なくとも 1 個できるように貼り合わせたものである、請求項 3 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の反応器。

【請求項 7】 酵素反応用である、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の反応器。

【請求項 8】 酵素反応が PCR である、請求項 7 に記載の反応器。

【請求項 9】 免疫反応用である、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の反応器。

【請求項 10】 化学反応用である、請求項 1 ～ 6 のいずれか 1 項に記載の反応器。

【請求項 11】 光学的分析に使用可能な臨床検査用である、請求項 3 ～ 5 のいずれか 1 項に記載の反応器。

【請求項 12】 識別コードが付された請求項 9 に記載の反応器。

【請求項 13】 識別コードが、英字、数字、バーコード又は二次元バーコードである、請求項 10 に記載の反応器。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、遺伝子工学、蛋白質工学、細胞工学、免疫学等の生化学関連分野において、比較的微量の溶液で加熱を伴う各種反応、例えば、酵素反応、免疫反応、化学反応等を行う場合に使用する反応器に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 現在、酵素活性の測定、PCR による核酸増幅、DNA 抽出、ミエローマ細胞の培養、抗体力価の測定等の生化学関連分野の研究や、臨床検査においては、 $10\mu\text{l}$  ～  $2\text{ml}$  程度の微量溶液の反応器として、微量遠心管又はマイクロプレートウェルが用いられている。また、臨床検査自動機器では、プラスチック成形品の試

験管が用いられている。

【0003】 多数のサンプルについて同時に反応を行う場合、例えば、多数の遠心管を接続した反応器が用いられるが、例えば、PCR のように  $50\sim 100^\circ\text{C}$  の比較的高い温度で反応を行う場合には反応液の蒸発を防止するべく各遠心管の蓋を個別に閉めて密閉する必要があるため、操作性、迅速性が悪いという問題がある。また、微量遠心管の容量は、通常、 $200\sim 1500\mu\text{l}$  程度であるが、そのような遠心管を用いると、反応液の量が容器容量に比べて少ない場合、加熱すると反応液が蒸発してしまうという問題もある。反応液の蒸発を防ぐために、反応液にミネラルオイルを重層させたり、タグピン付きの蓋材を使用する等の方法があるが、反応液を回収する際に前記オイルが混入し易いので穏やかな回収操作を要する、オイルの混入を回避しようとするとき余剰液が出る、タグピンに反応液が付着する等の問題がある。

【0004】 また、マイクロプレートウェルは、48穴、96穴等の多サンプルが連結した形態であるが、従来のマイクロプレートウェルは完全密閉ができないので上述のような比較的高温で反応を行う場合には反応液が蒸発するという問題がある。更に、プラスチック成形品の試験管は、容量が大きいことから微量溶液の反応には不適であり、密閉もできない等の問題もある。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の課題は、微量溶液を用いて加熱を伴う種々の反応を行う場合に、密閉操作が容易で、反応液が蒸発するという問題がない反応器を提供することにある。

## 【0006】

【課題を解決するための手段】 上記課題に鑑み、本発明は、反応液供給部分の容積が反応液の量とほぼ同等にすることができ、しかも反応液供給後、該部分が密閉可能である反応器を提供するものであり、微量物の包装体、例えば、プレススルーバック (PTP)、ユニットドース点眼薬包装体、ポーションバック等の医薬品包装体類似の形状、構造を有する。

【0007】 即ち、本発明は、少なくとも 1 個の凹部が設けられた基材と、フィルムとからなり、前記フィルムが前記基材に熱溶着又は圧着されることにより前記凹部を密閉することが可能である反応器 (以下、反応器①という。) を提供する。また、本発明は、開口部を有する空隙を少なくとも 1 個有する容体からなり、前記開口部が熱溶着、圧着又は凹凸嵌合により閉塞されて前記空隙を密閉することが可能である反応器 (以下、反応器②という。) を提供する。

【0008】 以下、本発明を詳細に説明する。

反応器①

反応器①は、少なくとも 1 個の凹部が設けられた基材と、フィルムから構成され、例えば、医薬品の包装形態であるプレススルーバック (PTP) 等に類似した構造



のものである。反応器①の具体例を図 1 ~ 2 に示す。図 1 は、反応器の斜視図であり、反応器は、基材 1 と、フィルム 2 とからなり、基材 1 には、凹部 3 が多数設けられている。図 2 は、凹部 3 に反応液を入れた後、フィルム 2 を基材 1 に熱溶着又は圧着することにより、反応液を入れた凹部 3 を密閉することができる（図 2 参照）。

【0009】基材には、反応液供給部分である凹部が少なくとも 1 個設けられており、この凹部に反応液を入れる。凹部は、いずれの形状でもよいが、熱伝導を迅速かつ均一に行うために、加熱部位との接触面積が大きく、熱伝導が良好となるような形状が望ましい。また、凹部の容積は、加熱による反応液の蒸発を防ぐために、反応液の体積とほぼ同等に設定するのが好ましく、具体的には、通常、 $10\mu\text{l}$  ~  $2\text{ml}$  の範囲である。基材の大きさは、凹部の大きさ、個数等により適宜設定することができる。

【0010】基材の材料としては、化学的に安定で反応を阻害せず、成形可能な高分子材料が用いられる。基材の材料として用いられる高分子材料としては非極性ポリオレフィン類、極性ポリオレフィン類、ポリ塩化ビニル類、ポリ塩化ビニリデン類、ポリスチレン類、ポリビニルアルコール類、ポリアクリロニトリル類、フッ素樹脂類、ポリエステル類、ポリカーボネート類、ポリアミド類、ポリウレタン類、ポリスルホン類、ポリエーテルイミド類、多糖類、蛋白質等があり、具体的にはポリエチレン、エチレン-酢酸ビニル共重合体、ポリプロピレン、エチレン-アクリル酸共重合体、エチレン-メタクリル酸共重合体、アイオノマー、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリスチレン、アクリロニトリル-ブタジエン-スチレン共重合体、鹼化エチレン-酢酸ビニル共重合体、ポリテトラフルオロエチレン、ポリクロロトリフルオロエチレン、ポリフッ化ビニリデン、ナイロン、ポリウレタン、ポリエーテルイミド等が例示され、これらの誘導体等も用いることができる。また、中でも熱伝導が迅速で水蒸気透過性が少ないものが望ましく、具体的には、ポリエチレン及びポリプロピレンが好適である。更に、試薬の吸着を防止するため、グロー放電、コロナ放電等による表面処理を行うことも可能である。

【0011】また、フィルムの材料としては、上記基材の材料と同様のものが例示される。フィルムの厚さは、通常、 $1 \sim 2000\mu\text{m}$  である。フィルムを基材に熱溶着する場合には、基材及び／又はフィルムに熱可塑性樹脂を塗布する。また、フィルムを基材に圧着する場合には、基材及び／又はフィルムに接着剤又は粘着剤を塗布する。接着剤としては、通常プラスチック成形品用の接着剤に用いられているものを使用することができ、例えば、アクリル系、エチレン-酢酸ビニル共重合体等が挙げられる。

【0012】また、基材の凹部の汚染防止のため、あらかじめフィルムで凹部を密閉しておき、反応液を凹部に

供与する場合には、シリンジ等をそのフィルムに貫通させて反応液を供与し、反応液供与後さらにもう一層のフィルムを熱溶着又は圧着して凹部を密閉してもよい。また、操作の簡便性に鑑みて、あらかじめ一部の反応試薬を容器内に収納しておいても良い。反応後は、シリンジをフィルムに貫通させることにより反応液を抜き取ることができる。また、フィルムの反応液との接触面の汚染防止のために、該接触面に保護フィルムを積層した二層フィルムとしておき、基材の凹部に反応液を供与した後、該保護フィルムを剥離しながら基材上にフィルムを熱溶着又は圧着して凹部を密閉してもよい。

#### 【0013】反応器②

反応器②は、開口部を有する空腔を少なくとも 1 個有する容器からなり、前記開口部は熱溶着、圧着又は凹凸嵌合により閉塞され、空腔を密閉することが可能である。これは、例えば、医薬品の包装形態であるユニットドース点眼薬包装体やポーションバック等に類似した構造のものである。また、空腔に均一で一定の厚みをもたせることにより、キュベットのよう光学的分析用の容器として用いることができるので、臨床検査、反応のモニタリング等に用いると都合がよい。

【0014】容器の材料としては、上記した反応器①の基材と同様の材料が挙げられ、反応器①の基材の材料と同様、熱伝導が迅速で水蒸気透過性が少ないものが好ましい。更に、反応器①の基材の材料と同様、試薬の吸着力が小さく、反応を阻害しない物質が好ましいことから、上記と同様の表面処理等が行われていてもよい。また、反応器②を光学的分析に使用する場合には、測定部は紫外・可視光吸収の少ないものがよく、例えば、トリアセチルセルロース等のセルロース類、ポリエチレン、ポリプロピレン等のポリオレフィン類、ポリメチルメタクリレート、ポリエチルアクリレート等のポリ（メタ）アクリレート類、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン等のポリハロゲン化ビニル等が挙げられる。

【0015】空腔は、いずれの形状でもよいが、反応試薬を導入するための開口部ができるだけ小さくなるように開口部付近が細くなっており、その他の部分が広がっている形状が好ましい。また、空腔の容積は、加熱による反応液の蒸発を防ぐために、反応液の体積とほぼ同等に設定するのが好ましく、具体的には、通常、 $10\mu\text{l}$  ~  $2\text{ml}$  の範囲である。

【0016】空腔の開口部付近には、予めシーラントを塗布しておき、空腔に反応液を入れた後、熱溶着又は圧着することにより、開口部を閉塞させることができる。また、空腔に反応液を入れた後に開口部付近にシーラントを塗布して開口部を熱溶着又は圧着してもよい。シーラントとしては、通常のプラスチック成形品用の熱可塑性樹脂が用いられる。また、PCR の反応器として使用する場合には、DNA の 1 本鎖への変性の温度である  $95^\circ\text{C}$  付近で熱溶着するポリプロピレン、メタロセン触媒ポ

リエチレン、アクリレート系共重合体、酢酸ビニル系共重合体、アイオノマー、アクリレート-酢酸ビニル共重合体等の低融点シーラントを用いることも可能である。或いは接着剤又は粘着剤が使用される。

【0017】また、開口部に予め凹凸嵌合可能な凹凸を設けておき、空隙に反応液を入れた後、開口部に圧力を加えて凹凸嵌合することによっても閉塞させることができる。また、容体には、切り込み部分又はくびれ部分が設けられているのが好ましい。切り込み部分又はくびれ部分を設けておくことにより、例えば、反応後に密閉された空隙内の反応溶液を取り出す場合に、その切り込み部分又はくびれ部分に力を加えて容体を破損して空隙が外気と連通するように容易に開口部を設けることができる。

【0018】反応器②の具体例を図3～6に示す。図3は、ユニットドース点眼薬包装体型の反応器の縦断面図である。容体4は開口部5が設けられた空隙6を複数個有する。開口部5付近には、低融点シーラント7が塗布されている。反応液をディスペンサー9を用いて開口部5から空隙6に入れた後（図4参照）、開口部5を熱溶着又は圧着により閉塞する（図5参照）。また、容体4には、各空隙の開口部5の反対側に、比較的弱い力で捻じって切れるようなくびれ部分8が設けられており、反応終了後は該くびれ部分8を捻じ切って容体4を破損することにより各空隙が外気と連通するような開口部10を設け、そこからシリンジ11を用いて反応液を取り出すことができる（図6参照）。

【0019】また、容体は、フィルムを開口部を有する袋状の空隙が少なくとも1個できるように貼り合わせたタイプの、所謂ポーションバック型のものであってもよい。そのようなポーションバック型の反応器の具体例を図7～10に示す。図7は、ポーションバック型の反応器の断面図であり、反応器は、フィルム12と、複数の空隙6'とを有し、空隙6'には開口部5'が設けられている。ディスペンサー9を用いて反応液を開口部5'から空隙6'に入れた後（図8参照）、ヒートシーラー等により開口部付近にシーラント7'を塗布し、熱溶着又は圧着することにより開口部5'を閉塞する（図9参照）。反応後は、シリンジ11をフィルムに貫通させることにより反応液を抜き取ることができる（図10参照）。更に、このような容体には、予め容体の端部に切り込み13を入れたり（図11参照）、ミシン目の切り込み14（図12参照）を入れておいてもよく、これにより、該切り込みから容体を破損させて各空隙が外気と連通するような開口部を容易に設けることができる。このようなポーションバック型の反応器②は、1枚のフィルムを折って貼り合わせたものでもよく、2枚のフィルムを貼り合わせたものでもよい。フィルムは、1層又は複数の層からなる。フィルムは、熱溶着又は圧着により貼り合わされる。熱溶着により貼り合わせる場合、フィルムは熱可塑

性樹脂層を有しており、その熱可塑性樹脂層同士を貼り合わせる。また、圧着により貼り合わせる場合、フィルムは接着剤層を有しており、その接着剤層同士を貼り合わせる。

【0020】更に、例えば、厚さが一定で均一の空隙が形成されるようにスペーサーを介してフィルムを貼り合わせることにより、光学的分析に使用可能な反応器②を製造することができる。図13は、そのような反応器②の分解斜視図であり、この反応器②は、矩形の貫通孔17と、前記貫通孔17を開口させる切溝18を有するスペーサー15に、2枚の透明で、紫外・可視光吸収の少ないフィルム16aと16bを図中の矢印方向に貼り合わせたものである。図14はかかる反応器②の斜視図であり、開口部5"には予めシーラント又は接着剤を塗布しておき、この反応器②の空隙6"に開口部5"から反応液を入れた後、開口部5"を熱溶着又は圧着することにより空隙6"を密閉することができる。

【0021】光学的分析に使用可能な反応器②は、例えば、自動化分析において認識が可能なように識別コードを付することができる。識別コードとしては、数字、英字、バーコード、二次元バーコード等が挙げられる。識別コードは、インキジェットや転写により直接容器に付することもでき、また、識別コードを印刷したシートを貼付することにより付することもできる。

【0022】上記反応器①及び反応器②を構成する基材等は、例えば、射出成形、押出成形、圧縮成型、トランスファー成形、ブロー成形、熱成形、積層成形、発泡成形、回転成形、注型、ディップ成形、真空成形等により所望の形状に成形加工することができる。

【0023】また、反応器①の凹部のような比較的微細な穴を形成する場合には、レーザー加工による穴あけも適用可能である。反応器①及び反応器②は、いずれも反応液供給部分、具体的には反応器①においては凹部、反応器②においては空隙を、複数個有することが可能である。したがって、多数のサンプルについて同時に反応させることが可能であり、自動化に伴う各工程での容器の運搬が容易になる。また、もちろん、反応液供給部分が1個の反応器を1個又は複数個用いて各種反応を行うことも可能である。反応液供給部分が複数個ある反応器の場合、かかる部分は1次元的（反応器②の場合）又は2次元的（反応器①の場合）に配列する。1次元的に集合した場合は、反応器はテープのような形状をとり、反応前後の容器をコンパクトに例えば滅菌バックのようなクリーン環境下にコンパクトに収納することが可能である。またサンプル数が非常に多種類の場合もライン化することにより対応することが可能である。2次元に集合させる場合はシート状、プレート状の形態をとる。

【0024】本発明の反応器①及び②を用いて各種反応を行う場合、反応器の密閉を熱溶着、圧着又は凹凸嵌合により行う以外は、通常の方法で行うことができる。反

応後の溶液の回収は、マイクロピペット、シリンジ等を用いて行われる。また、上述したように、容体に予め切り込み部分又はくびれ部分を設けておき、該部分で容体を破損して開口部を設けて回収してもよい。また、本発明の反応器①及び②を用いれば、溶液の保存及び反応を一つの容器で行うことができる。更に本発明の反応器②を用いれば、溶液の保存、反応、及び光学的分析を一つの容器で行うことができる。

【 0 0 2 5 】

【 発明の実施の形態 】

【 0 0 2 6 】

【 実施例 】 以下、実施例を示して本発明をより詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【 0 0 2 7 】 【 実施例 1 】 図 1 に示すような、直径 5.8 mm の半球状のウエル 3 が等間隔に設けられた長さ 120 mm、幅 80 mm、厚さ 700  $\mu$  m のポリプロピレン製のシート状基材 1 を真空成形で作製した。基材 1 のウエル 3 部分を除く部分全面にアクリル系粘着剤を塗布した。フィルム 2 としては 2 軸延伸ポリプロピレンフィルムを用いた。

【 0 0 2 8 】 50  $\mu$  l の新生児の血液を含浸させた濾紙を 0.85 % 生理食塩水に浸漬し、得られた白血球をフェノール抽出した。得られた DNA 全量 ; 10 mM Tris・塩酸 (pH 8.3) ; 1.6 mM 塩化マグネシウム ; 0.01 % ゼラチン ; オルニチントランスカルバミラーゼ遺伝子の第 3 エクソンを含む 106 bp の前後 20 mer の 2 種のプライマーをそれぞれ 50 pmole ; d A T P、d C T P、d G T P、d T T P をそれぞれ 100  $\mu$  mole ; Taq DNA ポリメラーゼ 1.5 unit を含む混合液 50  $\mu$  l を、上記の各々のウエルにマイクロピペットを用いて供与した後、フィルムで覆った。次いで、フィルムを基材に荷重 2 kg/cm<sup>2</sup> の圧力で 10 秒間圧着し、図 2 に示すようにウエルを密閉した。密閉後、この反応器を予め該反応器に密着するよう成形した熱サイクル機能付き加熱ブロックに設置し、94℃で 1.5 分間、43℃で 2 分間及び 73℃で 2 分間を 1 サイクルとして 30 サイクル繰り返して P C R を行った。反応終了後、マイクロシリンジをフィルムに貫通させて各ウエル内の反応液を回収した。この反応液とブランクとして P C R を行う前の混合液とを、それぞれ DNA マーカー (  $\lambda$  ファージ DNA / Hind III 分解物 ) とともに 0.8 % DNA アガロースゲル電気泳動に供与したエチジウムブロマイド染色を行ったところ、P C R 後の反応液では 106 bp 付近にオルニチントランスカルバミラーゼと考えられる DNA 断片が目視検出された。P C R 反応前の混合液では確認されなかった。各ウエルのサンプルのエチジウムブロマイド染色の蛍光強度はいずれも同程度であった。

【 0 0 2 9 】 【 実施例 2 】 幅 50 mm、厚さ 50  $\mu$  m の 2 軸延伸ポリプロピレンフィルム / アクリル系接着剤 / 無延伸

ポリプロピレンフィルムの複合フィルムの無延伸ポリプロピレンフィルム同士を、図 7 に示すような等間隔に開口部 5' を有する袋状の空隙 6' が 20 個形成されるように 130℃、荷重 2 kg/cm<sup>2</sup>、1 秒間熱溶着することにより貼り合わせた。得られた反応器の各空隙の大きさは 20 mm  $\times$  25 mm  $\times$  0.1 mm であった。

【 0 0 3 0 】 実施例 1 で用いたものと同様の混合液 50  $\mu$  l ずつを、図 8 に示すようにそれぞれの空隙 6' にマイクロディスペンサー 9 を用いて 20 サンプル分供与した。

10 開口部 5' を図 9 に示すように 130℃、荷重 2 kg/cm<sup>2</sup>、1 秒間熱溶着することにより閉塞した。この反応器を、94℃、43℃、73℃の液体浴中でそれぞれ 1.5 分間、2 分間、2 分間保持することを 1 サイクルとして 30 サイクル行った。反応終了後、図 10 に示すようにシリンジを用いそれぞれの空隙より反応液を回収した。

【 0 0 3 1 】 実施例 1 と同様の方法で、各反応液と、反応前の混合液についてエチジウムブロマイド染色を行った結果、P C R 反応後の反応液では 106 bp 付近にオルニチントランスカルバミラーゼと考えられる DNA 断片が目視検出された。反応前の混合液では確認されなかった。各空隙のサンプルのエチジウムブロマイド染色の蛍光強度はいずれも同程度であった。

【 0 0 3 2 】 【 実施例 3 】 射出成形により図 3 に示すような開口部 5 が設けられた空隙 6 を 20 個有し、くびれ部分 8 を有する容体 4 を作製した。開口部 5 周辺にシーラント 7 ( 超低温ヒートシール性ポリプロピレン樹脂 ) を塗布した。図 4 に示すように開口部よりマイクロディスペンサーを用いて、実施例 1 で用いたものと同様の混合液 50  $\mu$  l を、各空隙に 20 サンプル分供与した。治具を用いて荷重 2 kg/cm<sup>2</sup> で各開口部 5 を密着させた後、この反応器を 94℃、43℃、73℃の液体浴中でそれぞれ 1.5 分間、2 分間、2 分間保持することを 1 サイクルとして 30 サイクル行った。最初の 94℃の温水浴中でシーラント 7 が熱融着し、各開口部 5 は閉塞した。反応終了後、図 11 に示すように突起 8 を折って開口部を設け、そこからマイクロピペットを用いて反応液を回収した。

【 0 0 3 3 】 実施例 1 と同様の方法で、各反応液と、反応前の混合液についてエチジウムブロマイド染色を行った結果、P C R 反応後の反応液では 106 bp 付近にオルニチントランスカルバミラーゼと考えられる DNA 断片が目視検出された。反応前の混合液では確認されなかった。各空隙のサンプルのエチジウムブロマイド染色の蛍光強度はいずれも同程度であった。

【 0 0 3 4 】 【 実施例 4 】 図 13 に示すような形状のスパーサー 15 ( 厚さ : 4 mm ) を介して、幅 50 mm、厚さ 100  $\mu$  m の 2 軸延伸ポリプロピレンフィルム 16 a 及び 16 b を貼り合わせた。穴部 18 には無延伸ポリプロピレンを塗布した。このようにして図 14 に示すような反応器を作製した。空隙 6'' の大きさは、20 mm  $\times$  25 mm  $\times$  4 mm である。

50 【 0 0 3 5 】 空隙 6'' に、尿検体 50  $\mu$  l、1 % グアヤク

脂エタノール溶液  $2 \mu\text{l}$ 、 $1.2\text{w/v}\%$  グルコースオキシダーゼリン酸緩衝溶液 (pH 6.5)  $75 \mu\text{l}$ 、 $0.9\text{w/v}\%$  ペルオキシダーゼ (西洋ワサビ由来) リン酸緩衝溶液 (pH 6.5)  $73 \mu\text{l}$  を順次加えた。次いで、開口部  $5''$  を  $130^\circ\text{C}$  で、荷重  $2 \text{kg}/\text{cm}^2$  で 1 秒間ヒートシール熱溶着することにより閉塞した。続いて、直ちに  $37^\circ\text{C}$  でインキュベートし、30 秒後に  $570\text{nm}$  で吸光度測定を行って尿中に含まれるグルコース濃度を測定した。

#### 【 0 0 3 6 】

【発明の効果】本発明の反応器は、多数のサンプルを同時に反応させることができ、しかも、熱溶着、圧着又は凹凸嵌合により簡単に密閉することができる。更に、反応液供給部分の容積をサンプル量とほぼ同等に設定することができるので、サンプルが微量であってもサンプルが加熱により蒸発することがなく、また、反応液の回収も容易に行うことができる。したがって、本発明の反応器は、反応を自動的に行う場合や、臨床検査等の分析を自動的に行う場合に好適に用いられる。

#### 【図面の簡単な説明】

【図 1】プレススルーパック型の本発明の反応器の斜視図である。

【図 2】プレススルーパック型の本発明の反応器の斜視図である。

【図 3】ユニットドース点眼薬包装体型の本発明の反応器の縦断面図である。

【図 4】ユニットドース点眼薬包装体型の本発明の反応

器の縦断面図である。

【図 5】ユニットドース点眼薬包装体型の本発明の反応器の縦断面図である。

【図 6】ユニットドース点眼薬包装体型の本発明の反応器の縦断面図である。

【図 7】ポーションパック型の本発明の反応器の断面図である。

【図 8】ポーションパック型の本発明の反応器の断面図である。

【図 9】ポーションパック型の本発明の反応器の断面図である。

【図 10】ポーションパック型の本発明の反応器の断面図である。

【図 11】ポーションパック型の本発明の反応器の断面図である。

【図 12】ポーションパック型の本発明の反応器の断面図である。

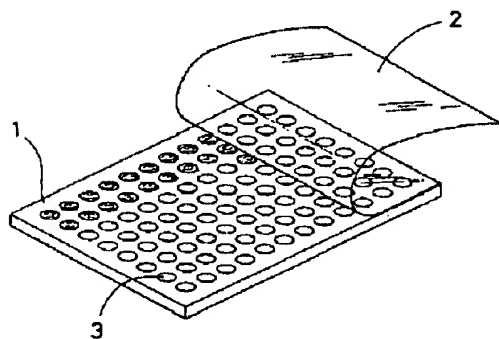
【図 13】光学的分析に使用可能な反応器の分解斜視図である。

【図 14】光学的分析に使用可能な反応器の斜視図である。

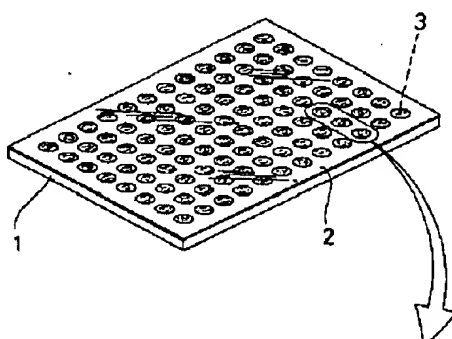
#### 【符号の説明】

1…基材、2…フィルム、3…凹部、4…容体、5…開口部、5'…開口部、5''…開口部、6…空隙、6'…空隙、6''…空隙、8…くびれ部分、13…切り込み、14…切り込み

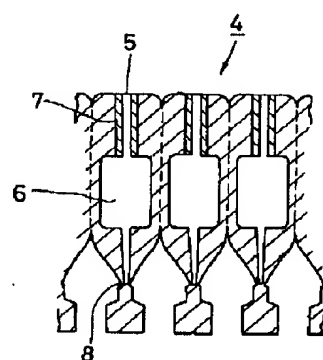
【図 1】



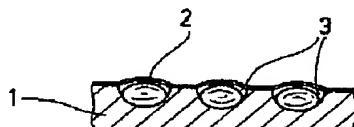
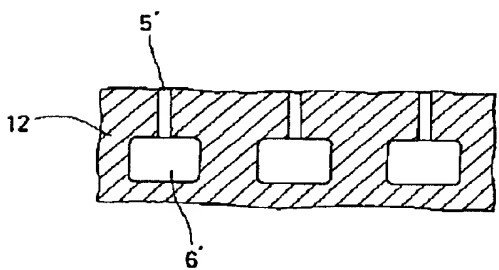
【図 2】



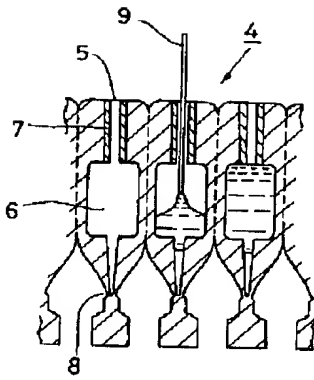
【図 3】



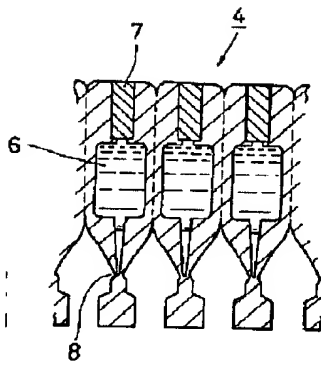
【図 7】



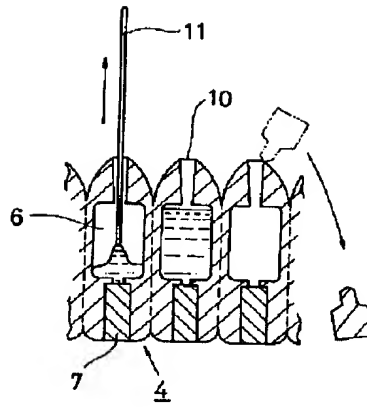
【図 4】



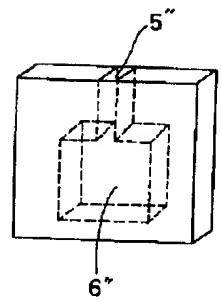
【図 5】



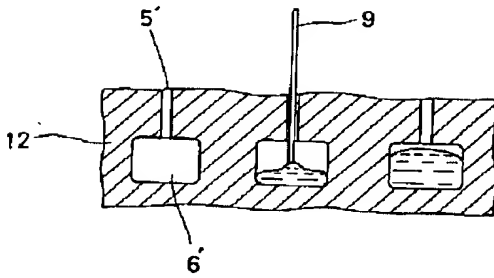
【図 6】



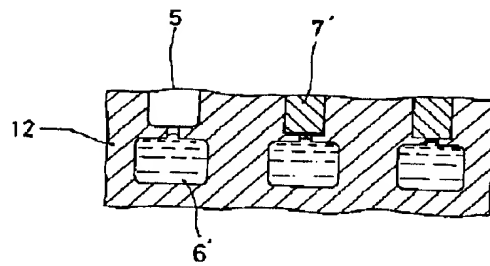
【図 14】



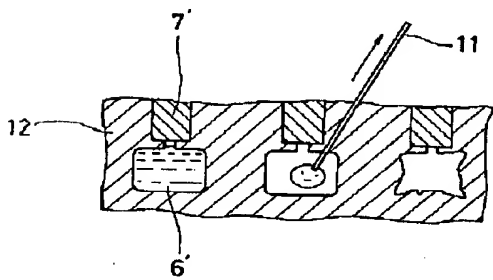
【図 8】



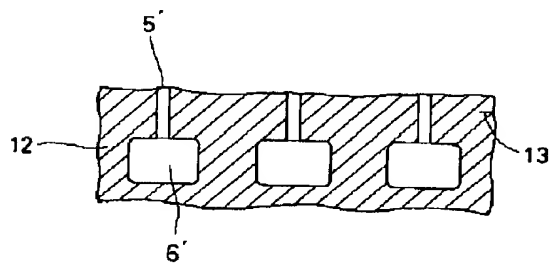
【図 9】



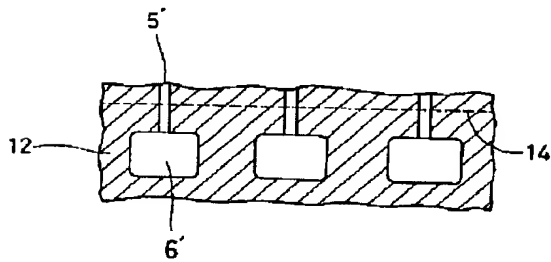
【図 10】



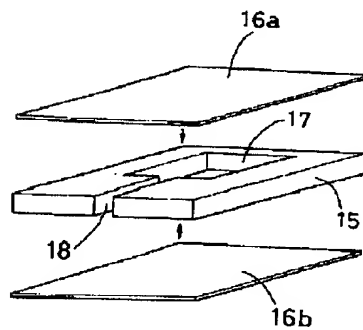
【図 11】



【図 12】



【図 13】



16T

特 許 協 力 条 約

P C T

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
〔PCT36条及びPCT規則70〕

REC'D 24 MARS 2000

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号 1502PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/00524	国際出願日 (日.月.年) 08.02.99	優先日 (日.月.年) 09.02.98
国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>7</sup> C12M 1/00, C12Q 1/68, C12N 15/00		
出願人 (氏名又は名称) 東洋鋼板株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。

2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。

☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。

I ☒ 国際予備審査報告の基礎

II ☐ 優先権

III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成

IV ☐ 発明の単一性の欠如

V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明

VI ☐ ある種の引用文献

VII ☐ 国際出願の不備

VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 07.07.99	国際予備審査報告を作成した日 13.03.00	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員)  齋藤 真由美	4 N 9839
電話番号 03-3581-1101 内線 3488		

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)	請求の範囲	1-12	有
	請求の範囲		無
進歩性(IS)	請求の範囲		有
	請求の範囲	1-12	無
産業上の利用可能性(IA)	請求の範囲	1-12	有
	請求の範囲		無

## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

## 特許請求の範囲1-12

文献1: J P, 9-99932, A (大日本印刷株式会社) 15. 4月. 1997  
(15. 04. 97)

段落番号【0009】～【0010】

段落番号【0009】～【0010】

(ファミリーなし)

文献2: Jagannath B. Lamture, et. al., 「Direct detection of nucleic acid hybridization on the surface of a charge coupled device」  
Nucleic Acids Research(1994), Vol. 22, No. 11, p. 2121-2125

文献3: M. Eggers, et. al., 「A Microchip for Quantitative Detection of Molecules Utilizing Luminescent and Radioisotope Reporter Groups」  
BioTechniques(1994), Vol. 17, No. 3, p. 516-525

引用文献1には、PCRの反応器において、基材として熱伝導を迅速かつ均一に行うために、熱伝導迅速で水蒸気透過性が少ないものが好ましい旨記載されている。

引用文献2, 3には、SiO<sub>2</sub>にエポキシ基を介してオリゴヌクレオチドを共有結合させるDNAチップについて記載されている。

したがって、引用文献1には、PCR反応において熱伝導性の高い材質を用いることが記載されていることから、DNAチップの基板においても熱伝導性の高い材質を基板として用いることは当業者が容易に想到しうるものであると認める。

加えて、ダイヤモンドが熱伝導性の高い材質であり、熱伝導性基質の1つとして使用されていたことは本願出願当時周知であったと認める。

したならば、熱伝導性の高い基材として、ダイヤモンドを選択することにも格別の困難性は認められない。

また、その基板に引用文献2, 3に記載されるような化学装飾する方法を用いてDNAチップを作製することは当業者が容易に想到しうるものであると認める。



特 許 協 力 条 約

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
[PCT36条及びPCT規則70]

4

出願人又は代理人 の書類記号 1502PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/00524	国際出願日 (日.月.年) 08.02.99	優先日 (日.月.年) 09.02.98
国際特許分類 (IPC) Int. Cl <sup>7</sup> C12M 1/00, C12Q 1/68, C12N 15/00		
出願人 (氏名又は名称) 東洋鋼板株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条 (PCT36条) の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 07.07.99	国際予備審査報告を作成した日 13.03.00		
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 齋藤 真由美	4N	9839
電話番号 03-3581-1101		内線 3488	

様式PCT/IPEA/409 (表紙) (1998年7月)

## 1. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

1-12

有

請求の範囲

無

進歩性(IS)

請求の範囲

1-12

有

請求の範囲

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

1-12

有

請求の範囲

無

## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

## 特許請求の範囲 1-12

文献1: J P, 9-99932, A (大日本印刷株式会社) 15. 4月. 1997  
(15. 04. 97)

段落番号【0009】～【0010】

段落番号【0009】～【0010】

(ファミリーなし)

文献2: Jagannath B. Lamture, et. al., 「Direct detection of nucleic acid hybridization on the surface of a charge coupled device」  
Nucleic Acids Research(1994), Vol. 22, No. 11, p. 2121-2125

文献3: M. Eggers, et. al., 「A Microchip for Quantitative Detection of Molecules Utilizing Luminescent and Radioisotope Reporter Groups」  
BioTechniques(1994), Vol. 17, No. 3, p. 516-525

引用文献1には、PCRの反応器において、基材として熱伝導を迅速かつ均一に行うために、熱伝導迅速で水蒸気透過性が少ないものが好ましい旨記載されている。

引用文献2, 3には、SiO<sub>2</sub>にエポキシ基を介してオリゴヌクレオチドを共有結合させるDNAチップについて記載されている。

したがって、引用文献1には、PCR反応において熱伝導性の高い材質を用いることが記載されていることから、DNAチップの基板においても熱伝導性の高い材質を基板として用いることは当業者が容易に想到しうるものであると認める。

加えて、ダイヤモンドが熱伝導性の高い材質であり、熱伝導性基質の1つとして使用されていたことは本願出願当時周知であったと認める。

したならば、熱伝導性の高い基材として、ダイヤモンドを選択することにも格別の困難性は認められない。

また、その基板に引用文献2, 3に記載されるような化学装飾する方法を用いてDNAチップを作製することは当業者が容易に想到しうるものであると認める。

## PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

**PCT**

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

To:

United States Patent and Trademark  
Office  
(Box PCT)  
Crystal Plaza 2  
Washington, DC 20231  
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing:

12 August 1999 (12.08.99)

International application No.:

PCT/JP99/00524

Applicant's or agent's file reference:

1502PCT

International filing date:

08 February 1999 (08.02.99)

Priority date:

09 February 1998 (09.02.98)

Applicant:

TANGA, Michifumi et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

07 July 1999 (07.07.99)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO  
34, chemin des Colombettes  
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer:

J. Zahra

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

EP



PCT

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第 40、41 条)  
[PCT 18 条、PCT 規則 43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 1502PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記 5 を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP99/00524	国際出願日 (日.月.年) 08.02.99	優先日 (日.月.年) 09.02.98
出願人 (氏名又は名称) 東洋鋼板株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第 41 条 (PCT 18 条) の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

#### 1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第 47 条 (PCT 規則 38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、  
第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>°</sup> C12M1/00, C12Q1/68, C12N15/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>°</sup> C12M1/00, C12Q1/68, C12N15/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (DIALOG)

WPI (DIALOG)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	J P, 9-99932, A (大日本印刷株式会社) 15. 4月. 1997 (15. 04. 97) 段落番号【0009】～【0010】 段落番号【0009】～【0010】 (ファミリーなし)	1, 3-12 2
Y A	Jagannath B. Lamture, et. al., 「Direct detection of nucleic acid hybridization on the surface of a charge coupled device」 Nucleic Acids Research(1994), Vol. 22, No. 11, p. 2121-2125	1, 3-12 2

☒ C欄の続きにも文献が列举されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

26. 04. 99

国際調査報告の発送日

11.05.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

富永 みどり



4 N

9839

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y A	M. Eggers, et. al., 「A Microchip for Quantitative Detection of Molecules Utilizing Luminescent and Radioisotope Reporter Groups」 BioTechniques(1994), Vol. 17, No. 3, p. 516-525	1, 3 - 12 2